

氏名 小 野 恭 裕

授与した学位 博 士

専攻分野の名称 医 学

学位授与番号 博 乙 第 2792 号

学位授与の日付 平成 6 年 9 月 30 日

学位授与の要件 博士の学位論文提出者

(学位規則第 4 条第 2 項該当)

学位論文題目 Stable expression in rat glioma cells of sense and antisense nucleic acids to a human multifunctional DNA repair enzyme, APEX nuclease

(ヒト多機能DNA修復酵素APEXヌクレアーゼに対するセンスおよびアンチセンス核酸のラットグリオーマ細胞における安定的発現)

論文審査委員 教授 二宮 善文 教授 清水 憲二 教授 難波 正義

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

多機能DNA修復酵素APEXヌクレアーゼは、塩基欠落部位 (AP sites) およびラジカル損傷一本鎖切断DNAの修復開始等に関与する。本酵素cDNAを用いて構築した発現プラスミドを細胞内に導入し、センスRNAまたはアンチセンスRNAを発現し、細胞内酵素量・修復能を変化させ、アルキル化剤等に対する感受性がどのような影響を受けるかを検討した。それぞれの発現プラスミドをラットC6グリオーマ細胞に導入し、サザンおよびノーザンブロット法で導入cDNAの組み込みとその発現を確認した後、それぞれの細胞のAPエンドヌクレアーゼ活性を活性プロット法で測定した。対照細胞に比し、センスRNA発現細胞は約 2 倍、アンチセンスRNA発現細胞は約 5 分の 1 のAPエンドヌクレアーゼ活性を認めた。これら形質転換細胞のDNA損傷剤メチルメタンサルホン酸や過酸化水素に対する耐性をコロニー形成法で検討したところ、センスRNA発現細胞は対照と同じ感受性を示したが、アンチセンスRNA発現細胞は有意に高感受性を示した。これらの結果は、本酵素が生細胞内でAP sitesおよび一本鎖切断損傷DNAの修復に重要な役割を果たしていることを示唆した。

なお、本論文は共著論文であり、共著者の協力を得て完成したものである。

論文審査の結果の要旨

本研究はDNA修復酵素APEXヌクレアーゼcDNAを用い、センスRNAとアンチセンスRNAをラットグリオーマ細胞に発現させたものである。その結果アンチセンスRNA発現細胞がDNA損傷剤高感受性を示したものであり、このことは細胞内でAPEXヌクレアーゼがDNA修復に重要な役割を果たしていることを直接示したものであり、価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。